

ผลของการให้แคดเมียมร่วมกับปรอทและแมงกานีสต่อการทำงานของ  
ไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว



นางสาวอภิรมา เหล่าเจริญเกียรติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2534

ISBN 974-578-854-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017727 117919012



หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของการให้แคดเมียมร่วมกับปรอทและแมงกานีสต่อ  
การทำงานของไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว

โดย

นางสาวอภิรมย์ เหล่าเจริญเกียรติ

ภาควิชา

สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร.ประกร จุกะพงษ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

*ดร. ภาณุ*  
.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ ดร. ภาณุ วัชรภักย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

*ประสาธน์ ชุ่มชื่น*  
.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาธน์ ชุ่มชื่น)

*ดร. ประกร*  
.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประกร จุกะพงษ์)

*ดร. มณฑล*  
.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.มณฑล สงวนเสริมศรี)

*ดร. วิชา*  
.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิชา จันทสุตร)

ศูนย์วิจัยทางการแพทย์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CADMIUM IN COMBINATION WITH MERCURY AND MANGANESE  
ON THE FUNCTIONS OF ISOLATED RAT LIVER MITOCHONDRIA



Miss. Apirom Leocharoenkeat

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Inter-Department of Pharmacology  
Graduate School  
Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-578-854-6

APIROM LAOCHAROENKEAT : EFFECTS OF CADMIUM IN COMBINATION WITH MERCURY AND MANGANESE ON THE FUNCTIONS OF ISOLATED RAT LIVER MITOCHONDRIA. THESIS ADVISOR: ASSO.PROF. PRAKORN CHUDAPONGSE, Ph.D., 106P. ISBN 974-578-854-6

Combination of 1  $\mu$ M cadmium with 1 to 10  $\mu$ M of mercury or manganese increase the inhibition of state 3 respiration as well as monoamine oxidase activity and increase the stimulation of ATPase activity by isolated rat liver mitochondria. With cadmium and mercury combination, the inhibition of state 3u respiration is significantly enhanced. However, manganese when combined with cadmium reduces the inhibitory effect of cadmium on state 3u respiration. Significant increase in the inhibition of calcium-stimulated respiration was observed with manganese plus cadmium. The diminution of state 3 respiration produced by these heavy metals can be reversed by EDTA and DTT; but the former cannot alleviate the decrease in state 3 respiration induced by mercury.



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา .....  
สาขาวิชา .....  
ปีการศึกษา ..... ๒๕๓๓

ลายมือชื่อนิสิต .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาพร้อม .....

อภิธรรมย์ เหล่าเจริญเกียรติ : ผลของการให้แคดเมียมร่วมกับปรอทและแมงกานีสต่อ  
การทำงานของไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว (EFFECTS OF CADMIUM IN  
COMBINATION WITH MERCURY AND MANGANESE ON THE FUNCTIONS OF  
ISOLATED RAT LIVER MITOCHONDRIA)

อ. ที่ปรึกษา รศ.ดร.ประภท จุฑพงษ์, 106 หน้า, ISBN 974-578-854-6

การให้แคดเมียมความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 1 ถึง 10 ไมโครโมลาร์ของ  
ปรอทหรือแมงกานีสต่อไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว มีผลเพิ่มการยับยั้ง state 3  
respiration , การทำงานของเอนไซม์ไมโทซินออกซิเดส และกระตุ้นการทำงานของ  
เอนไซม์ ATPase เมื่อให้แคดเมียมร่วมกับปรอท จะเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้ง state 3u  
respiration แต่การยับยั้งกระบวนการดังกล่าวลดลง เมื่อเปรียบเทียบการได้รับแคดเมียมร่วม  
กับแมงกานีส กับการได้รับแคดเมียมอย่างเดียว การยับยั้งการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซียม  
เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในกรณีที่ได้รับแมงกานีสร่วมกับแคดเมียมเท่านั้น EDTA และ DTT  
สามารถทำให้ state 3 respiration ที่ถูกยับยั้งคืนกลับได้ แต่ในกรณีของการได้รับปรอท  
อย่างเดียว state 3 respiration ไม่สามารถคืนกลับได้โดย EDTA



ศูนย์วิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาควิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพ .....  
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพ .....  
ปีการศึกษา 2533 .....

ลายมือชื่อผู้คิด อภิธรรมย์ เหล่าเจริญเกียรติ .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [Signature] .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประกร จุฑะพงษ์ อาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา , ให้คำแนะนำ , ควบคุมการวิจัยและให้ข้อคิดเห็นเกี่ยวกับการวิจัยในครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณอาจารย์ท่านอื่นๆซึ่งมิได้กล่าวนามในที่นี้ ที่มีส่วนช่วยในการสนับสนุนการวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณ เกษกรหญิงสุรตี วิบูลย์เจริญ เกษกรระดับ 8 หัวหน้าฝ่ายเวชภัณฑ์ปลอดเชื้อบริการกลาง แผนกเภสัชกรรม โรงพยาบาลศิริราช ที่ได้ให้ความสนับสนุนในการศึกษาต่อและเป็นผู้ค้าประกันในหนังสือสัญญาการศึกษาต่อครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วน รวมถึงบุคคลอื่นๆที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสำเร็จ

อภิรมย์ เหล่าเจริญเกียรติ

ศูนย์วิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ท
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย.....	16
1 สัตว์ทดลอง.....	16
2 การเตรียมไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว.....	16
3 Incubation medium ที่ใช้ในการวิจัย.....	19
4 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิจัย และแหล่งที่มาของสารเคมี.....	20
5 การวัดอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรีย.....	20
6 การคำนวณค่าดัชนีควมคมการหายใจ และอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียในระยะต่าง ๆ.....	23
7 การวัด ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย.....	25
8 การหาปริมาณโปรตีนของไมโทคอนเดรีย.....	26
9 แสดงผลการทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	27
3 ผลการวิจัย.....	28
1 ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษา ต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชัน.....	28
2 ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษา ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรีย โดยแคลเซียม.....	81
3 ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษา ต่อการทำงานของโมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด A และชนิด B ของไมโทคอนเดรีย.....	83

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4 ผลของโลหะหนักที่นำศึกษา ต่อการทำงานของ เอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย.....	84
5 ผลของการให้ DTT ต่อการยับยั้งกระบวนการ.. ออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชันของแคคเมียม ปรอท.. และแมงกานีส.....	85
6 ผลของการให้ EDTA ต่อการยับยั้งกระบวนการ.. ออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชันของแคคเมียม ปรอท.. และแมงกานีส.....	85
4 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง.....	86
1 กระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชัน.....	86
2 กระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรีย โดยแคลเซียม.....	90
3 การทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส.... ชนิด A และ B.....	91
4 การทำงานของเอนไซม์ ATPase.....	92
5 DTT และ EDTA ต่อการทำงานของไมโทคอนเดรีย เมื่อถูกยับยั้งโดยโลหะหนักที่นำมาใช้ศึกษา.....	93
เอกสารอ้างอิง.....	95
ประวัติผู้เขียน.....	105

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลของปรอทและแมงกานีสเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อ..... ให้ร่วมกับแคดเมียม ต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase..... ของไมโทคอนเดรีย.....	77
2	ผลการทดลองเมื่อให้ DTT ต่อการยับยั้ง state 3..... respiration ของไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว ของ..... แคดเมียม , ปรอท และแมงกานีส.....	78
3	ผลการทดลองเมื่อให้ EDTA ต่อการยับยั้ง state 3..... respiration ของไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว ของ..... แคดเมียม , ปรอท และแมงกานีส.....	79



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

1	แสดงขั้นตอนการแยกไมโทคอนเดรียจาก liver-..... homogenate โดย differential centrifugation.....	18
2	แสดง incubation chamber ที่ใช้ในการหาค่าอัตรา..... การใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรีย.....	21
3	แสดงวิธีคำนวณค่าดัชนีการหายใจและอัตราการใช้ออกซิเจน....	24
4	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อ state 3 respiration ของไมโท..... คอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate+ malate..... เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	30
5	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อ state 3u respiration ของไมโท-..... คอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate+ malate..... เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	32
6	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อ state 3 respiration ของไมโท-..... คอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท... ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	34
7	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อ state 3u respiration ของไมโทคอนเดรีย. จากตับหนูขาว เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ.... 30 องศาเซลเซียส.....	36
8	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อ state 3 respiration ของไมโท-..... คอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate+ malate..... เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	38

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
9	ตัวอย่าง Tracing แสดงผลของการให้แคดเมียม และ..... แมงกานีสอย่างเดี่ยว และผลของการให้แคดเมียมร่วมกับ..... กับแมงกานีส ต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชัน..... ของไมโทคอนเดรีย โดยใช้ glutamate + malate..... เป็นสับสเตรท.....	40
10	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยว และ..... เมื่อให้ร่วมกัน ต่อ state 3 respiration ของ..... ไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate +..... malate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	42
11	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยว และ..... เมื่อให้ร่วมกัน ต่อ state 3u respiration ของ..... ไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate +..... malate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	44
12	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยว และ..... เมื่อให้ร่วมกัน ต่อ state 3 respiration ของ..... ไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ succinate..... เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	46
13	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยว และ..... เมื่อให้ร่วมกัน ต่อ state 3u respiration ของ..... ไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ succinate..... เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	48
14	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยว และ..... เมื่อให้ร่วมกัน ต่อ state 3 respiration ของ..... ไมโทคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate +..... malate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	50
15	ตัวอย่าง Tracing แสดงผลของการให้แคดเมียม และ..... ปรอทอย่างเดี่ยว และผลของการให้แคดเมียมร่วมกับ..... ปรอท ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจ โดยแคลเซียม..... ของไมโทคอนเดรีย โดยใช้ glutamate + malate..... เป็นสับสเตรท.....	52

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
16	ผลของปรอทและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโต-..... คอนเดรีย โดยใช้แคลเซียม เมื่อใช้ glutamate +.... malate เป็นลับลเตรท ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	54
17	ผลของปรอทและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโต-..... คอนเดรีย โดยใช้แคลเซียม เมื่อใช้ succinate ..... เป็นลับลเตรท ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	56
18	ผลของปรอทและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อ..... ให้ร่วมกัน ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโต-..... คอนเดรีย โดยใช้แคลเซียม เมื่อใช้ glutamate+malate เป็นลับลเตรท ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	58
19	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อ... ให้ร่วมกัน ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโต-..... คอนเดรีย โดยใช้แคลเซียม เมื่อใช้ glutamate+malate เป็นลับลเตรท ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	60
20	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อ... ให้ร่วมกัน ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโต-..... คอนเดรีย โดยใช้แคลเซียม เมื่อใช้ succinate..... เป็นลับลเตรท ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	62
21	ผลของแมงกานีสและแคดเมียม เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อ... ให้ร่วมกัน ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโต-..... คอนเดรีย โดยใช้แคลเซียม เมื่อใช้ glutamate+malate เป็นลับลเตรท ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	64
22	ตัวอย่าง Tracing แสดงผลของการให้แคดเมียมและปรอท... อย่างเดี่ยวและผลของการให้แคดเมียมร่วมกับปรอทต่อ ..... การทำงานของเอนไซม์ไมโทมินออกซิเดส ชนิด A.....	66
23	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อให้ร่วมกัน.. ต่อการทำงานของเอนไซม์ไมโทมินออกซิเดส ชนิด A.....	68

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
24	ผลของแมงกานีสและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้... ร่วมกันต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด A..	70
25	ผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน.. ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด B.....	72
26	ผลของแมงกานีสและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้... ร่วมกันต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด B..	74
27	ตัวอย่าง Tracing แสดงผลของการให้แคดเมียมและปรอท... อย่างเดี่ยวและผลของการให้ร่วมกันต่อการทำงานของ..... เอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรียที่ถูกกระตุ้นด้วย DNP....	76

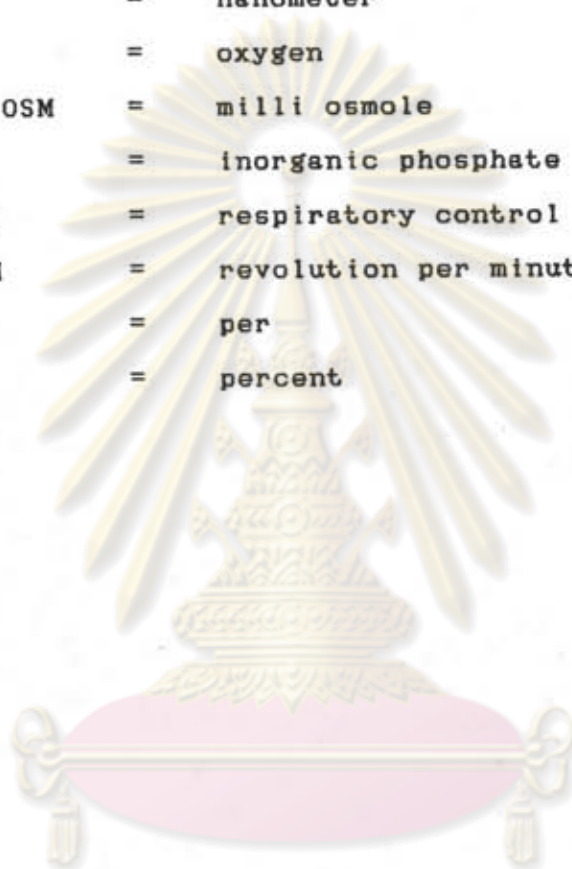


ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

กก.	=	กิโลกรัม
มก.	=	มิลลิกรัม
มคก.	=	ไมโครกรัม
มคล.	=	ไมโครลิตร
มคอ.	=	ไมโครอะตอม
มล.	=	มิลลิลิตร
มม.	=	มิลลิเมตร
ล.	=	ลิตร
ลบ.ม.	=	ลูกบาศก์เมตร
น.ม.	=	นาโนโมล
ADP	=	adenosine-5-diphosphate
ATP	=	adenosine-3-5-triphosphate
$Cd^{2+}$	=	cadmium ion
DNP	=	2,4-dinitrophenol
DTT	=	dithiothreitol
EDTA	=	ethylene diamine tetraacetic acid
EGTA	=	ethyleneglycol-bis-(B-aminoethyl-ether) N,N,N,N-tetraacetic acid
g	=	centrifugal force unit ( gravity )
$H^+$	=	proton
HEPES	=	N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid
5-HT	=	5-hydroxytryptophan
$Hg^{2+}$	=	mercuric ion
$K^+$	=	potassium ion
M	=	molar
$Mn^{2+}$	=	manganese ion
mM	=	millimolar
ml	=	milliliter
min	=	minute
$\mu$ atom	=	microatom

$\mu\text{g}$	=	microgram
$\mu\text{l}$	=	microliter
$\mu\text{M}$	=	micromolar
N	=	normality
n atom	=	nanostom
nm	=	nanometer
O	=	oxygen
m. OSM	=	milli osmole
Pi	=	inorganic phosphate
RCI	=	respiratory control index
RPM	=	revolution per minute
/	=	per
%	=	percent



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย